

F. P. Höltermann

Mainz 1979

Aus dem Pharmakologischen Institut der Johannes
Gutenberg - Universität Mainz

Der Effekt von natriumarmen und kaliumreichen Lösungen auf den neuronalen Efflux von α -Methyladrenalin am perfundierten Kaninchenherzen.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors
der Medizin der Johannes Gutenberg-
Universität in Mainz,

dem Fachbereich Medizin
vorgelegt

von
Frank-Peter Höltermann
aus Hameln

Mainz 1979



Fachbereichsdekan: Prof. Dr. Leithoff

1. Gutachter: Prof. Dr. E. Muscholl

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Kilbinger



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552610_0043

INHALTSVERZEICHNIS

SEITE

A. EINLEITUNG	1
B. METHODEN	
1. Prämedikation, Narkose und Präparation der Versuchstiere; Infusion von α -Methyladrenalin.	4
2. Perfusion der isolierten Kaninchenherzen.	4
2.1. Perfusionsversuche mit K^+ -reicher Lösung.	6
2.2. Perfusionsversuche mit Na^+ -armer Lösung.	9
3. Bestimmung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin in den Perfusaten und Herzen.	10
4. Berechnungen und statistische Methoden.	11
5. Substanzen.	12
C. VERSUCHSERGEBNISSE	
1. Wirkung der Infusion von α -Methyladrenalin auf die Herzfrequenz der Kaninchen.	13
2. Wirkung von K^+ -reicher Lösung auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.	13
2.1. Versuche bei verschieden langer Perfusionszeit mit K^+ -reicher Lösung.	13
2.2. Versuche mit K^+ -reicher, Ca^{++} -armer Lösung bei einer Perfusionszeit von 4 Minuten.	15
3. Wirkung von Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.	20
3.1. Versuche bei verschieden langer Perfusionszeit mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff).	20

3.2. Versuche mit Na^+ -armer, Ca^{++} -armer Lösung (Harnstoff) bei einer Perfusionszeit von 4 Minuten.	20
3.3. Versuche mit Na^+ -armer Lösung über 4 Minuten bei Aufrechterhaltung der Osmolalität durch Saccharose statt durch Harnstoff.	21
4. Versuche bei erniedrigter Temperatur der Perfusionslösungen.	27
5. Freisetzung von Noradrenalin während der Perfusion und Gehalt der Herzen an Noradrenalin nach der Perfusion.	27
6. Gehalt der Herzen an α -Methyladrenalin vor und nach den Perfusionsversuchen.	31
D. DISKUSSION	37
E. ZUSAMMENFASSUNG	44
F. LITERATUR	47

A. EINLEITUNG

Die durch eine Erregung der adrenergen Nervenfasern bedingte Freisetzung von Noradrenalin erfolgt wahrscheinlich durch Exozytose direkt in den synaptischen Spalt (SMITH und WINKLER, 1972). Demgegenüber kann Noradrenalin aus den Vesikeln auch in das Axoplasma abgegeben und unter teilweiser Desaminierung durch Monoaminoxydase über die Nervenmembran freigesetzt werden. Diese nicht-exozytotische Freisetzung von Noradrenalin aus dem Axoplasma ist unter Einwirkung von indirekt wirkenden Aminen wie Tyramin (PATON, 1973) und Na^+ -armer Lösung (BOGDANSKI und BRODIE, 1969) beobachtet worden. Um den neuronalen Efflux, d.h. die Freisetzung axoplasmatischer Amins, frei von Einflüssen durch vesikuläre Speicherung und Monoaminoxydase zu untersuchen, bot sich eine Vorbehandlung mit Reserpin (Blockierung der vesikulären Speicherung) und einem Monoaminoxydasehemmer (Aufhebung der intraneuronalen Desaminierung durch Monoaminoxydase) an (GRAEFE, BÖNISCH und TRENDELENBURG, 1971 ; LÖFFELHOLZ, 1971 ; LÖFFELHOLZ, LINDMAR und MUSCHOLL, 1973 ; LINDMAR und LÖFFELHOLZ, 1974a). Um den neuronalen Efflux näher zu beschreiben, untersuchten daraufhin verschiedene Autoren Möglichkeiten seiner Beeinflussung. Es zeigte sich, daß sowohl eine Erniedrigung der Natriumkonzentration (LINDMAR und LÖFFELHOLZ, 1974b) als auch eine Erhöhung der Kaliumkonzentration (WAKADE und KIRPEKAR, 1974) in der Perfusionslösung eine erhöhte Freisetzung von Noradrenalin aus dem Axoplasma zur Folge haben. Eine Hemmung des neuronalen Effluxes durch Temperaturerniedrigung wurde von LINDMAR und LÖFFELHOLZ 1972 nachgewiesen. Die vorliegende Arbeit hat zur Aufgabe, die Freisetzung eines "falschen" Überträgerstoffes aus dem Axoplasma adrenerger Nervenendigungen am isolierten Kaninchenherzen durch Erniedrigung der Natrium- und Erhöhung der Kalium-

konzentration in den perfundierten Lösungen näher zu untersuchen. Das untersuchte Amin ist α -Methyladrenalin (Dihydroxyephedrin). Es kann auch als "falscher" Überträgerstoff durch Nervenreizung freigesetzt werden (Übersicht: MUSCHOLL, 1972). α -Methyladrenalin wurde mit Hilfe einer intravenösen Infusion in die adrenergen Nervenendigungen inkorporiert. Die Kaninchen wurden mit Reserpin vorbehandelt, um endogene Katecholamine aus den vesikulären Speichern zu entfernen und eine Neuaufnahme von Aminen in diese Speicher zu verhindern. Da α -Methyladrenalin für die Monoaminoxidase kein Substrat darstellt, war eine medikamentöse Hemmung dieses Enzyms nicht nötig.

Die Natriumkonzentration der Tyrodelösung wurde dadurch herabgesetzt, daß der größte Teil des NaCl durch eine Menge von Harnstoff ersetzt wurde, welche die Gefrierpunktserniedrigung der Lösung wieder auf den Wert von Tyrodelösung (285 mOsmol/kg H₂O) brachte. Eine solche Lösung hatte in Versuchen von DUBEY, MUSCHOLL und PFEIFFER (1975), RITZEL und MUSCHOLL (1976) sowie DIXON, FOZARD, GOSLING, MUSCHOLL und RITZEL (1978) eine beträchtliche Freisetzung von endogenem, vesikulär gebundenem Noradrenalin aus Herzen nicht mit Reserpin vorbehandelter Kaninchen hervorgerufen. RITZEL (1978) beobachtete dann, daß diese Aminabgabe anhielt, auch wenn die Herzen anschließend wieder mit normaler Tyrodelösung perfundiert wurden. Dies deutete auf eine permanente Schädigung der Vesikel, der Axonmembran oder beider Funktionen hin. In den folgenden Versuchen ist die Beteiligung der Vesikel an der Aminabgabe ausgeschaltet. Daher eignet sich die Versuchsanordnung dazu, den Angriffspunkt von Na⁺-armer Lösung näher zu charakterisieren.

In einer Versuchsanordnung wurde Harnstoff durch Saccharose ersetzt, um festzustellen, ob die bei der Perfusion mit Na⁺-armer Lösung beobachtete Aminfreisetzung durch

Erniedrigung der Natriumkonzentration allein oder auch durch eine osmotisch unzureichende Wirkung des hinzugefügten Harnstoffes verursacht wurde.

Es wurde ferner untersucht, ob der neuronale Efflux von α -Methyladrenalin, ähnlich wie der von Noradrenalin (PATON, 1976), von der Calciumkonzentration der Lösungen unabhängig ist. Ebenso wurde geprüft, ob eine Erniedrigung der Temperatur des Perfusates eine verminderte Freisetzung auch von α -Methyladrenalin zur Folge hat (s.a. LINDMAR und LÖFFELHOLZ, 1972).

B. METHODEN

1. Prämedikation, Narkose und Präparation der Versuchstiere; Infusion von α -Methyladrenalin.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen von 1,5 - 2,3 kg Körpergewicht. 20 - 24 Stunden vor Beginn der Versuche erhielten die Tiere eine intravenöse Injektion von 1mg Reserpin/kg Körpergewicht. Nach Ablauf dieser Zeitspanne wurden die Kaninchen durch Injektion von 15mg/kg Pentobarbital - Natrium in die marginale Ohrvene narkotisiert. Durch Äther wurde anschließend die Narkose für etwa 45 min aufrechterhalten. Der Äther wurde so dosiert, daß der Kneifreflex und Cornealreflex gerade unterdrückt waren und ein reflektorischer Atemstillstand vermieden wurde. Die Körpertemperatur betrug während der Narkose 34,5 - 36,0°C. Zur Registrierung der Herzfrequenz wurde mit einem EKG - Schreiber (CARDIO-PAN 571 S, Fred Liechti AG, Bern) die Standardableitung II nach Einthoven aufgezeichnet.

War die nötige Narkosetiefe erreicht, erhielten die Kaninchen für 20 min eine Dauerinfusion von 85 g/kg und min α -Methyladrenalin entsprechend 100 g/kg und min α -Methyladrenalin-HCl. Gelöst war die Substanz in physiologischer Kochsalzlösung, der 1mg Ascorbinsäure pro 10ml zugefügt worden war.

Ein erschwerender Faktor war die durch die Reserpingabe bedingte oft sehr niedrige Körpertemperatur der Tiere (bis 30°C) zu Beginn der Versuche. Durch ein elektrisches Heizkissen wurde vor Beginn der Dauerinfusion die Körpertemperatur auf den oben genannten Wert angehoben.

2. Perfusion der isolierten Kaninchenherzen.

15 Minuten nach Beendigung der Infusion wurden die Ver-

suchstiere in Äthernarkose durch Öffnen der Karotiden entblutet und die Herzen isoliert. In die Aorta ascendens wurde eine Kanüle eingebunden und die Kaninchenherzen nach der LANGENDORFF - Technik perfundiert. Mit einer in die Perfusionsapparatur eingeschalteten Schlauchpumpe (DESAGA) wurde das Flüssigkeitsvolumen konstant auf 20ml/min gehalten. Die Zusammensetzung der zur Perfusion verwendeten Tyrodelösungen ist in Tabelle 1 angegeben. Die Nährlösung wurde mit einem Gemisch aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid begast. Ein Thermostat hielt ihre Temperatur auf $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ beziehungsweise $16 \pm 1^{\circ}\text{C}$ bei Versuchen mit niedriger Temperatur.

Anschließend wurden die Herzen nach der von BECKETT (1970) beschriebenen und von FOZARD und MUSCHOLL (1971) modifizierten Transversal-Methode fixiert. Diese gestattet eine getrennte Registrierung der systolischen Spannungsentwicklung von Vorhof und Herzkammer. Die isolierten Herzen wurden zunächst durch zwei Fäden, die am Ventrikelseptum befestigt worden waren, zur rückwärtigen Seite hin fixiert. Ein dritter Faden, der mit den beiden Haltefäden in einer gemeinsamen Ebene je einen Winkel von 120° bildete, verband den rechten Ventrikel mit einem mechanoelektrischen Wandler (GRASS, FT. 03). Dieser nahm die isometrische Spannungsentwicklung der rechten Kammer auf, die eine diastolische Vorspannung von 10g erhielt. Ein weiterer Faden verband das rechte Herzohr mit einem zweiten elektromechanischen Wandler gleichen Typs. Die diastolische Vorspannung betrug hier 1g. Die Impulse der beiden Wandler wurden einem HELLIGE-Direktschreiber HE 19 zugeleitet, der die Spannungsentwicklung kontinuierlich aufzeichnete. Die Schlagfrequenz registrierte ein Pulsfrequenzanzeiger (HELLIGE), der über die Schwankungen der Kammerspannung getriggert war.

Schlagfrequenz und Spannungsentwicklung von Vorhof und

Herzkammer wurden aufgezeichnet, um während des Versuches eine Kontrollmöglichkeit über den Funktionszustand der Herzen zu haben.

Die Fixierung der Herzen dauerte durchschnittlich 10 min. Danach begann die für jede Versuchsgruppe eigene Perfusionsreihe. Jede Versuchsgruppe bestand aus vier perfundierten Herzen.

2.1. Perfusionsversuche mit K^+ -reicher Lösung.

Die mit kaliumreicher Lösung vorgenommenen Versuche lassen sich in vier Gruppen unterteilen:

- a. Perfusionszeit: 30 min; Temperatur: $35,5 \pm 1^\circ\text{C}$; normaler Calciumgehalt
- b. Perfusionszeit: 4 min; Temperatur: $35,5 \pm 1^\circ\text{C}$; normaler Calciumgehalt
- c. Perfusionszeit: 30 min; Temperatur: $16,0 \pm 1^\circ\text{C}$; normaler Calciumgehalt
- d. Perfusionszeit: 30 min; Temperatur: $35,5 \pm 1^\circ\text{C}$; erniedrigter Calciumgehalt

Diese Gruppeneinteilung (a - d) wird bei der weiteren Darstellung der Versuche beibehalten.

Zu Beginn einer jeden Perfusionsreihe wurde das Herz 6 min lang mit einer normalen Tyrodelösung perfundiert. Das Perfusat wurde aufgefangen, um die Spontanfreisetzung von α -Methyladrenalin zu ermitteln. Um die Stabilität der Katecholamine zu gewährleisten, war hier wie auch in den später beschriebenen Versuchen 1 ml 1 n H_2SO_4 /50ml Perfusat vorgelegt worden.

In den Versuchsgruppen a, b und c wurde anschließend auf K^+ -reiche Lösung umgeschaltet. Bei a und c dauerte die Perfusion mit dieser Lösung 30 min, im Falle b nur 4 min. Daran schloß sich wieder eine Perfusion mit normaler Tyrodelösung an; bei a und c 6 min lang, bei b 32 min. Die Sammelzeiten betragen im Anschluß an die sechsminü-

Tab. 1 (Fortsetzung)

verän- derter Bestand- teil	Na ⁺ -arme		Ca ⁺⁺ -arme	
	Lösung		Tyrode-	
	(Saccharose)		lösung	
	g/l	mM	g/l	mM
NaCl	0,275	4,7	8,0	137
KCl	0,2	2,7	0,2	2,7
CaCl ₂	0,2	1,8	0,0125	0,113
Harnstoff	-	-	-	-
Saccharose	72,0	211	-	-

Gegenüber Tyrodelösung nicht veränderte Bestandteile:

MgCl₂: 0,1 g/l = 1,05 mM

NaHCO₃: 1,0 g/l = 11,9 mM

NaH₂PO₄: 0,05 g/l = 0,42 mM

Glucose: 1,0 g/l = 5,6 mM

Ascorbinsäure: 0,01 g/l = 57 μ M zur Stabilisierung der freigesetzten Amine.

tige Vorperfusion zur Feststellung der Spontanfreisetzung zweimal 2 min, dann zweimal 4 min und schließlich jeweils 6 min. Die Sammelzeiten wurden deshalb so unterschiedlich gewählt, um nach Umschalten auf kaliumreiche Lösung eine möglichst genaue Aufzeichnung des zeitlichen Verlaufes der meist sehr hohen Transmitterfreisetzung zu ermöglichen. Das Perfusat wurde demnach bei diesen Versuchen (a, b und c) über einen Zeitraum von insgesamt 42 min gesammelt. Der Versuch c unterscheidet sich von den beiden anderen dadurch, daß die Lösungen von Anfang an - also vom Zeitpunkt des Einbindens der Aortenkanüle an - konstant auf einer Temperatur von $16,0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ gehalten wurden.

Bei der Versuchsreihe mit Ca^{2+} -armer, K^{+} -reicher Lösung (d) änderte sich der zeitliche Ablauf. Der sechsminütigen Perfusion mit normaler Tyrodelösung schloß sich eine Perfusion mit Ca^{2+} -armer Tyrodelösung über 7 min an. Die perfundierte Flüssigkeit wurde hier nur während der ersten 6 min aufgefangen. Anschließend wurde auf Ca^{2+} -arme, K^{+} -reiche Lösung umgeschaltet. Die nun folgenden Sammelzeiten entsprachen denen der Versuchsreihen a, b und c nach Umschalten auf K^{+} -reiche Lösung. Der Zeitraum, in dem das Perfusat gesammelt wurde, betrug demnach hier 49 min. Auch hier wurde wieder nach einer Zeit von 30 min auf Ca^{2+} -arme Tyrodelösung umgeschaltet.

2.2. Perfusionsversuche mit Na^{+} -armer Lösung.

Die mit natriumarmer Lösung vorgenommenen Versuche lassen sich in die gleichen vier Perfusionsgruppen einteilen, wie sie unter 2.1. angegeben sind. Der Ablauf der einzelnen Versuchsreihen war ebenfalls entsprechend. Die Zusammensetzung der verschiedenen Lösungen entnehme man Tabelle 1. Zur Aufrechterhaltung einer der Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung der Lösungen

wurden bei diesen Versuchen $241 \text{ mMol/l} = 14,5 \text{ g/l}$ Harnstoff hinzugefügt.

Zusätzlich wurde eine Versuchsreihe in das Programm mit aufgenommen, bei der die der normalen Tyrodelösung entsprechende Gefrierpunktserniedrigung statt durch Harnstoff durch Saccharose erreicht wurde. Hierzu mußten der Lösung $211 \text{ mMol/l} = 72,0 \text{ g/l}$ Saccharose hinzugefügt werden. Der Ablauf dieser Versuchsreihe entsprach im übrigen derjenigen mit Na^+ -armer Lösung und Harnstoff als Zusatz.

Um diesen unterschiedlichen Zusatz kenntlich zu machen, wird im folgenden bei der Bezeichnung Na^+ -arme Lösung entweder "Harnstoff" oder "Saccharose" in Klammern hinzugefügt.

3. Bestimmung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin in den Perfusaten und Herzen.

Sofort nach Beendigung einer jeden Perfusionsreihe wurde das Herzgewicht bestimmt und das Herz in einem "Ultra - Turrax" - Homogenisator in zwei Portionen (zusammen 50 ml) eiskalter 5%iger Trichloressigsäure homogenisiert. Nach dem Zentrifugieren wurden die Überstände vereinigt und als Herzextrakt verwendet.

Das in den Herzextrakten und Perfusaten enthaltene Noradrenalin und α -Methyladrenalin wurde nach früher beschriebenen Methoden (EULER und ORWEN, 1955; LINDMAR und MUSCHOLL, 1964) bei pH 8,8 an $0,5 \text{ g}$ Aluminiumoxid adsorbiert und anschließend mit $0,5 \text{ n H}_2\text{SO}_4$ eluiert. Es folgte die differentialfluorometrische Bestimmung der Katecholamine nach der von MUSCHOLL (1966) angegebenen Modifikation der Trihydroxyindolmethode. Die Messung erfolgte in einem Zeiss-Spektralfluorimeter bei 520 nm durch Anregung bei 395 nm und 436 nm . Weitere Einzelheiten der Bestimmungsmethode sind der angeführten Literatur zu entnehmen.

Auf eine Ausbeutebestimmung zur Überprüfung der Methode wurde in Hinblick auf die Wiedergabe der Versuchsergebnisse als fraktionelle Freisetzungsgeschwindigkeit (s. unten) von α -Methyladrenalin verzichtet. Die Werte für Noradrenalin und den Amingehalt der Herzen vor und nach der Perfusion sind bezüglich der Ausbeute nicht korrigiert. Nach den im gleichen Labor durchgeführten Versuchen von RACKE (1978) betrugen die Werte der Ausbeutebestimmung für Noradrenalin $51,6 \pm 1,7\%$ ($n=19$) und für α -Methyladrenalin $53,8 \pm 2,9\%$ ($n=6$) der eingesetzten Aminmenge (200ng Noradrenalin bzw. 200ng α -Methyladrenalin). Die angegebenen Werte stellen Mittelwerte $\pm$ einmal den mittleren Fehler der Mittelwerte dar.

4. Berechnungen und statistische Methoden.

Als Parameter für die Freisetzung des infundierten α -Methyladrenalins wurde nicht die absolute Menge gewählt, sondern die fraktionelle Freisetzungsgeschwindigkeit (ENERO und LANGER, 1973). Sie gibt an, wieviel Prozent der gesamten, aktuell im Herzen vorhandenen Aminmenge in einer Minute freigesetzt wird. Um diese aktuelle Aminkonzentration (gemeint ist hier nur α -Methyladrenalin) im Herzen berechnen zu können, wurde zunächst einmal der jeweilige Katecholamingehalt des Herzens vor Beginn der Versuche festgestellt. Berechnet wurde er als Summe der Aminmengen, die während der 16minütigen Spontanfreisetzung und während der Perfusionsversuche freigesetzt wurden, sowie des Katecholamingehaltes des Herzens nach der Perfusion. Die Dauer der Spontanfreisetzung von 16 min ergibt sich aus der Zeit, die für die Fixierung der Herzen benötigt wurde - sie betrug erfahrungsgemäß 10 min - und der Zeit (6min), in der die Freisetzung gemessen wurde. Dieser Wert wurde als Grundlage für die Berechnung der freigesetzten Aminmenge während der ersten 16 min genommen. Im weiteren Verlauf wurde nun ausgerechnet, wieviel Prozent der zu Beginn einer jeden Sammelzeit aktuell im Herzen vorhandenen Katecholaminmenge während dieser Zeit freigesetzt

wurde und dieser Wert durch die Dauer der Sammelperiode in min geteilt. Bei der Berechnung der Mittelwerte und ihrer Streuung wurde von den Logarithmen der jeweiligen Werte ausgegangen, um der Darstellung im halb-logarithmischen System Rechnung zu tragen. Es handelt sich also um geometrische Mittelwerte ($\bar{x}$) $\pm$ einmal den mittleren Fehler der Mittelwerte. Die Freisetzung des trotz Vorbehandlung mit Reserpin in den Herzen verbliebenen Noradrenalins (gemessen in ng/min in den ersten 4 min jeder Perfusionsreihe) und der Katecholamingehalt der Herzen (ng) vor und nach der Perfusion wurden als arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) mit der Standardabweichung des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) ausgedrückt. Die Anzahl der Versuche wird als n angegeben. Mittelwertsvergleiche wurden mit dem Student's t-Test (SNEDECOR, 1950; DUNNETT, 1955) durchgeführt.

5. Substanzen.

Es wurden verwendet:

- a. Reserpin (Serpasil^R; CIBA Pharmazeutica, Wehr/Baden)
- b. Pentobarbital-Natrium (Nembutal^R; C.H.Boehringer Sohn, Ingelheim)
- c. (+)-3,4-Dihydroxyephedrin-HCl = α -Methyladrenalin (C.H.Boehringer, Ingelheim)
- d. Narkoseäther (Farbwerke Hoechst, Frankfurt/M.-Hoechst)
- e. (-)-Noradrenalin-Base (Farbwerke Hoechst, Frankfurt/M.-Hoechst)

Die zur Herstellung der Lösungen und die zur Aminbestimmung benötigten Substanzen hatten p.A.-Qualität.

C. VERSUCHSERGEBNISSE

1. Wirkung der Infusion von α -Methyladrenalin auf die Herzfrequenz der Kaninchen.

In Pentobarbital + Äther - Narkose erhielten die Kaninchen 20 min lang eine Infusion von 85 μ g/kg und min α -Methyladrenalin. Zur Registrierung der Herzfrequenz wurde mit einem EKG - Gerät die Ableitung II nach Einthoven aufgezeichnet. Dabei zeigte sich ein typischer zeitlicher Verlauf, der in Abbildung 1 dargestellt wird.

2. Wirkung von K^+ -reicher Lösung auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.

2.1. Versuche bei verschieden langer Perfusionszeit mit K^+ -reicher Lösung.

Vor Beginn einer jeden Perfusionsreihe wurden die Herzen 6 min lang mit normaler Tyrodelösung perfundiert. Auf diese Weise wurde die Spontanfreisetzung des infundierten "falschen" Überträgerstoffes α -Methyladrenalin ermittelt. Sie betrug bei den Versuchen 0,67 (0,59 - 0,76) % $\cdot$ min⁻¹ (fraktionelle Freisetzungsgeschwindigkeit) (n=8). Anschließend wurden die Herzen in beiden Versuchsreihen mit K^+ -reicher Lösung (Zusammensetzung siehe Tab.1) perfundiert. Die Dauer der Perfusion mit dieser Lösung betrug einmal 4 min, das andere Mal 30 min. Daran anschließend wurden die Herzen wieder mit normaler Tyrodelösung perfundiert; jeweils solange, bis eine Gesamtperfusionszeit von 36 min erreicht worden war. Die Temperatur der Lösungen betrug 35,0 $\pm$ 1°C. Das Perfusat wurde in insgesamt acht Fraktionen gesammelt. Die Sammelzeiten waren: 0 - 2 ; 2 - 4 ; 4 - 8 ; 8 - 12 ; 12 - 18 ; 18 - 24 ; 24 - 30 ; 30 - 36 min. Die in den Perfusaten bestimmten Katecholaminmengen sind - in Abhängigkeit von dem zeitlichen Verlauf der Perfusion -

Abb. 1

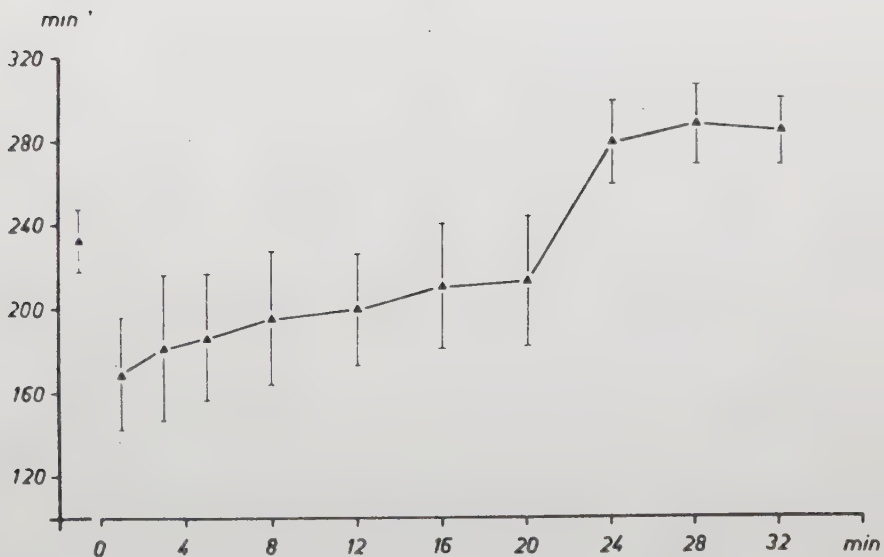
Wirkung einer Infusion von α -Methyladrenalin auf die Herzfrequenz der Kaninchen während Pentobarbital/Äther- Narkose. Dargestellt sind Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ aus 15 Versuchen.

Ordinate: Herzfrequenz/min.

Abszisse: Zeitverlauf in min. Infusionsbeginn bei

0 min, Infusionsende bei 20 min.

Der erste Wert außerhalb der Zeitskala gibt die Herzfrequenz/min 2 min vor Beginn der Perfusion an.



in Abbildung 2 dargestellt. Die Zahlenwerte sind Tabelle 2 zu entnehmen. Es zeigte sich, daß die anfänglich große Aminfreisetzung durch K^+ -reiche Lösung nach Umschalten auf normale Tyrodelösung bei 4 min innerhalb von 6 min die Größenordnung der Spontanfreisetzung wieder erreichte. Wurde erst nach 30 min wieder auf normale Tyrodelösung umgeschaltet, zeigte sich schon während der Perfusion mit K^+ -reicher Lösung ein langsamer Abfall der Aminfreisetzung, die aber erst nach Umschaltung die Größenordnung der Spontanfreisetzung wieder erreichte. Die Werte entnehme man ebenfalls Tabelle 2. In den ersten 4 min der Perfusion mit K^+ -reicher Lösung wurden 2319 ± 348 ng α -Methyladrenalin freigesetzt ($n=8$; Spontanabgaben abgezogen).

2.2. Versuche mit K^+ -reicher, Ca^{++} -armer Lösung bei einer Perfusionszeit von 4 Minuten.

Vor Beginn der Perfusionsreihe wurden die Herzen gleichfalls 6 min lang mit normaler Tyrodelösung perfundiert. Die so ermittelte Spontanfreisetzung von α -Methyladrenalin betrug $0,85 (0,73 - 0,99) \% \cdot \text{min}^{-1}$ ($n=4$). Daran anschließend wurden die Herzen 7 min mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung ($0,113 \text{ mM } Ca^{++}$) perfundiert. Das Perfusat wurde in den ersten 6 min gesammelt. Es ergab sich eine Spontanfreisetzung von $0,87 (0,80 - 0,95) \% \cdot \text{min}^{-1}$ ($n=4$). Danach wurde für 4 min auf K^+ -reiche, Ca^{++} -arme Lösung umgeschaltet. Anschließend wurde mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung weiterperfundiert. Die Sammelzeiten entsprechen den in 2.1. angegebenen Zeiten. Die Temperatur der perfundierten Lösungen betrug $35,0 \pm 1^\circ\text{C}$. Es zeigte sich, daß der zeitliche Verlauf der Aminfreisetzung während der Perfusion (siehe Abbildung 3) größenordnungsmäßig dem bei der vierminütigen Perfusion mit K^+ -reicher Lösung (normaler Calciumgehalt) entspricht. Die Werte im einzelnen können Tabelle 2 ent-

Abb. 2

Einfluß von K^+ -reicher Lösung auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen.

Die Perfusionszeit mit K^+ -reicher Lösung (135 mM K^+ und 17 mM Na^+) betrug bei der ersten Versuchsreihe (●) 4 min, bei der zweiten (▲) 30 min. Im Anschluß daran wurde Tyrodelösung perfundiert. Temperatur der Lösungen: $35^\circ C$. Der Calciumgehalt war normal (1,8 mM Ca^{++}). Anzahl der Versuche: $n=4$.

Ordinate: Aminfreisetzung in $\% \cdot min^{-1}$.

Abszisse: Zeitlicher Verlauf der Perfusion in min.

Die Werte außerhalb der Zeitskala geben die jeweilige Ruhefreisetzung an. Dargestellt sind geometrische Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$.

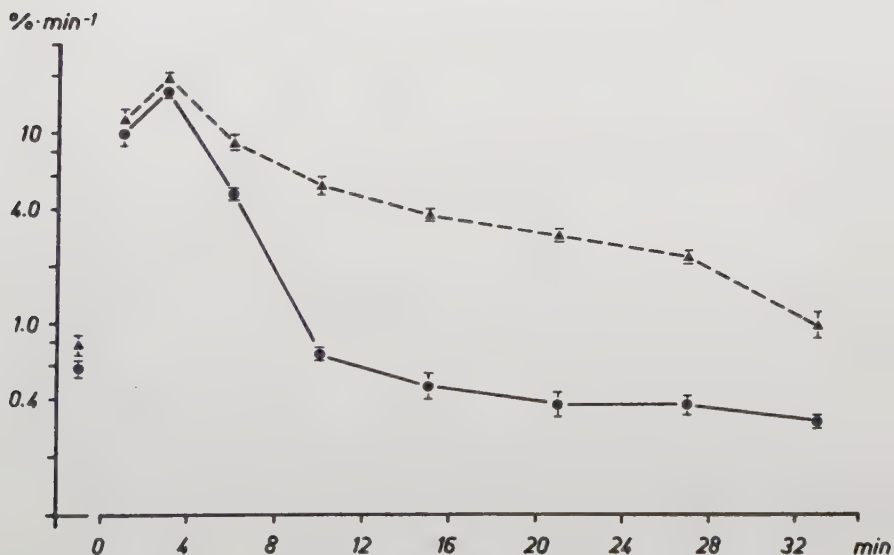
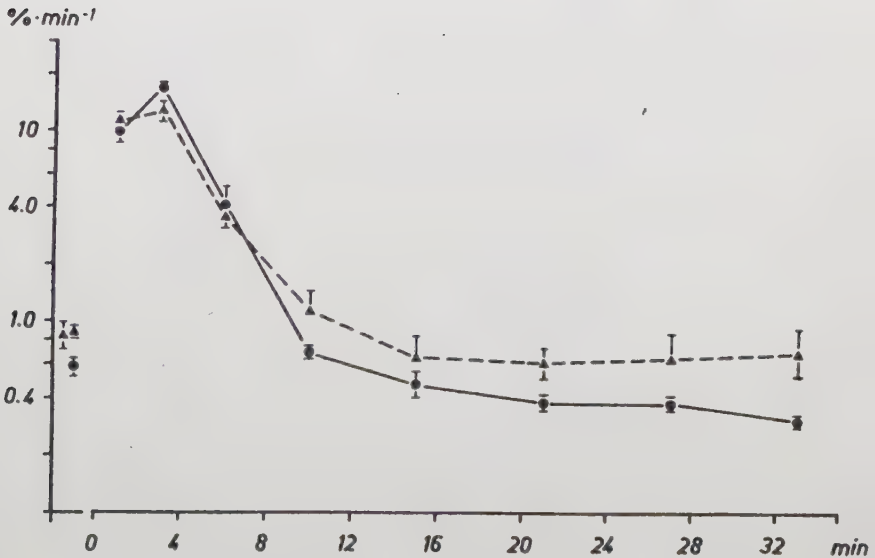


Abb. 3

Einfluß von K^+ -reicher, Ca^{++} -armer Lösung (135 mM K^+ , 17 mM Na^+ und 0,113 mM Ca^{++}) ($\blacktriangle$) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin im Vergleich zu K^+ -reicher Lösung mit normalem Calciumgehalt ($\bullet$).

Die Perfusionszeit betrug bei beiden Versuchsreihen 4 min. Temperatur der Lösungen: $35^{\circ}C$.

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abb. 2.



Tab. 2

Abgabe von α -Methyladrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen durch K^+ -reiche Lösung als fraktionelle Freisetzungsgeschwindigkeit ($\% \cdot \text{min}^{-1}$). Temperatur: 35°C .

S (min)	A ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	B ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	C ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)
0 - 2	9,86 (7,92 - 12,27)	11,70 (10,50 - 13,04)	11,1 (9,83 - 12,53)
2 - 4	16,75 (15,84 - 17,7)	19,12 (18,61 - 19,66)	12,71 (11,46 - 14,09)
4 - 8	4,08 (3,75 - 4,44)	8,97 (8,12 - 9,82)	3,52 (3,11 - 3,97)
8 - 12	0,69 (0,64 - 0,75)	5,37 (4,81 - 5,99)	1,14 (0,89 - 1,45)
12 - 18	0,47 (0,40 - 0,55)	3,75 (3,65 - 3,86)	0,65 (0,50 - 0,84)
18 - 24	0,38 (0,32 - 0,44)	2,94 (2,75 - 3,15)	0,62 (0,52 - 0,73)
24 - 30	0,38 (0,34 - 0,42)	2,34 (2,13 - 2,57)	0,65 (0,47 - 0,89)
30 - 36	0,31 (0,30 - 0,33)	0,98 (0,83 - 1,16)	0,70 (0,52 - 0,95)

Legende zu Tab. 2

S: Sammelzeiten

A: Abgabe von α -Methyladrenalin während 4minütiger Perfusion mit K^+ -reicher Lösung und anschließender 32minütiger Perfusion mit Tyrodelösung (n=4).

B: Abgabe von α -Methyladrenalin während 30minütiger Perfusion mit K^+ -reicher Lösung und anschließender 6minütiger Perfusion mit Tyrodelösung (n=4).

C: Abgabe von α -Methyladrenalin während 4minütiger Perfusion mit K^+ -reicher, Ca^{++} -armer Lösung und anschließender 32minütiger Perfusion mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung (n=4).

Angegeben sind geometrische Mittelwerte sowie in Klammern die dazugehörigen Werte $\bar{x} - s_{\bar{x}}$ und $\bar{x} + s_{\bar{x}}$.

Ein statistischer Vergleich von A mit B (4 - 30 min) wurde wegen eindeutiger Signifikanz nicht durchgeführt.

nommen werden.

3. Wirkung von Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.

3.1. Versuche bei verschieden langer Perfusionszeit mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff).

Wie auch bei den Versuchen mit K^+ -reicher Lösung wurden die Herzen zunächst 6 min lang mit Tyrodelösung perfundiert. Die so ermittelte Ruhefreisetzung von α -Methyladrenalin betrug 0,76 (0,65 - 0,89) % $\cdot \text{min}^{-1}$ (n=8). Anschließend wurden die Herzen mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) 4 bzw. 30 min lang perfundiert. Danach folgte eine Perfusion mit Tyrodelösung bis zu einer Gesamtperfusionszeit von 36 min. Die Sammelzeiten entsprechen den unter 2.1. angegebenen Zeiten. Es ergab sich über die gesamte Perfusion bei beiden Versuchsreihen eine etwa gleichgroße Freisetzung von α -Methyladrenalin. Nach anfänglich relativ steilem Anstieg der Aminfreisetzung bis zu einem Maximum in dem Sammelabschnitt 2 - 4 min fiel die Freisetzung von α -Methyladrenalin nur allmählich ab. Der Abfall wurde nicht durch Umschalten auf normale Tyrodelösung beeinflusst. Die Werte und der zeitliche Verlauf sind in Tabelle 3 aufgeführt bzw. in Abbildung 4 dargestellt.

3.2. Versuche mit Na^+ -armer, Ca^{++} -armer Lösung (Harnstoff) bei einer Perfusionszeit von 4 Minuten.

Vor Beginn der Versuche wurden die Herzen 6 min lang mit Tyrodelösung perfundiert. Die so ermittelte Spontanfreisetzung von α -Methyladrenalin betrug 0,69 (0,64 - 0,75) % $\cdot \text{min}^{-1}$ (n=4). Daran schloß sich eine siebenminütige Perfusion mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung an. Das Perfusat wurde in den ersten 6 min gesammelt und ergab eine Ruhefreisetzung bei erniedrigtem Calcium

von $0,76$ ($0,65 - 0,89$) $\% \cdot \text{min}^{-1}$ ($n=4$). Danach wurde für 4 min auf Na^+ -arme, Ca^{++} -arme Lösung (Harnstoff) umgeschaltet. Weiterperfundiert wurde dann mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung. Die Sammelzeiten entsprechen denen der anderen Versuche. Die Temperatur der Lösungen betrug $35,0 \pm 1^\circ\text{C}$. Es zeigte sich, daß die Aminfreisetzung durch Na^+ -arme, Ca^{++} -arme Lösung (Harnstoff) der durch Na^+ -arme Lösung (Harnstoff) mit normalem Calciumgehalt entspricht. Nach anschließendem Umschalten auf Ca^{++} -arme Tyrodelösung zeigte sich allerdings ein schnellerer Abfall der Aminfreisetzung als unter normaler Tyrodelösung (siehe Abbildung 5). Die Werte im einzelnen entnehme man Tabelle 3.

3.3. Versuche mit Na^+ -armer Lösung über 4 Minuten bei Aufrechterhaltung der Osmolalität durch Saccharose statt durch Harnstoff.

Der Ablauf der Perfusionsreihe entspricht dem der in 3.1. beschriebenen Versuche. Die Perfusionszeit mit Na^+ -armer Lösung (Saccharose) betrug 4 min, die Temperatur ebenfalls 35°C . Die Ruhefreisetzung in den ersten 6 min vor Beginn der Versuche erreichte $1,69$ ($1,42 - 1,99$) $\% \cdot \text{min}^{-1}$ ($n=4$). Die übrigen Werte und der zeitliche Verlauf sind in Tabelle 3 bzw. Abbildung 6 dargestellt. Die Abgabe von α -Methyladrenalin aus den Herzen während der 4-minütigen Perfusion mit Na^+ -armer Lösung (Saccharose) betrug 706 ± 56 ng, verglichen mit 1293 ± 88 ng nach 4-minütiger Perfusion mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff), $n=8$. In beiden Fällen wurden die pro 4 min berechneten Spontanabgaben abgezogen. Als dann nach Perfusion mit Na^+ -armer Lösung (Saccharose) auf normale Tyrodelösung zurückgeschaltet wurde, zeigte sich ein deutlicher Rückgang der pro Sammelzeit abgegebenen α -Methyladrenalinmengen.

Tab. 3
Abgabe von α -Methyladrenalin durch Na^+ -arme Lösung.

S (min)	A ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	B ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	C ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	D ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)
0 - 2	3,20(2,22-4,62)	3,62(3,01-4,35)	4,67(3,81-5,73)	5,06(4,28-5,99)
2 - 4	16,31(14,73-18,06)	15,93(15,57-16,29)	13,60(12,10-15,30)	8,96(7,51-10,69)
4 - 8	9,70(9,28-10,14)	7,72(7,12-8,36)	5,57(4,69-6,62)	2,32(1,95-2,75)
8 - 12	5,41(4,69-6,25)	5,96(5,27-6,74)	2,22(1,84-2,68)	2,16(1,84-2,55)
12 - 18	3,27(2,67-4,01)	3,58(2,98-4,30)	1,30(1,07-1,57)	1,45(1,35-1,57)
18 - 24	2,48(2,04-3,02)	2,94(2,50-3,46)	1,12(0,94-1,32)	1,46(1,18-1,80)
24 - 30	2,25(1,86-2,74)	1,92(1,57-2,34)	1,02(0,87-1,20)	1,42(1,21-1,66)
30 - 36	1,77(1,46-2,14)	2,33(1,97-2,76)	0,95(0,84-1,07)	1,21(1,04-1,40)

A/D: Abgabe von α -Methyladrenalin während 4minütiger Perfusion mit Na^+ -armer Lösung und anschließender 32minütiger Perfusion mit Tyrodelösung (n=4).

B: Abgabe von α -Methyladrenalin während 30minütiger Perfusion mit Na^+ -armer Lösung und anschließender 6minütiger Perfusion mit Tyrodelösung (n=4).

Fortsetzung der Legende zu Tab. 3:

C: Abgabe von α -Methyladrenalin während 4minütiger Perfusion mit Na^+ -armer, Ca^{++} -armer Lösung und anschließender 32minütiger Perfusion mit Ca^{++} -armer Tyrodelösung (n=4).

Zur Aufrechterhaltung einer der Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung wurde in den Versuchsreihen A, B und C Harnstoff, in der Versuchsreihe D Saccharose hinzugesetzt.

Statistischer Vergleich von A mit C: $p < 0,02$ für 4 bis 12 min, $p < 0,05$ für 12 bis 30 min (t - Test).

Statistischer Vergleich von A mit D: $p < 0,05$ für 2 bis 18 min (t - Test).

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Tabelle 2.

Abb. 4

Einfluß von Na^+ -armer Lösung auf die Freisetzung von -Methyladrenalin.

Die Perfusionszeit mit Na^+ -armer Lösung ($2,7 \text{ mM K}^+$, 17 mM Na^+) betrug bei der ersten Versuchsreihe (●) 4 min, bei der zweiten (▲) 30 min. Temperatur der Lösungen: 35°C . Der Calciumgehalt war normal ($1,8 \text{ mM Ca}^{++}$). Zur Aufrechterhaltung einer der normalen Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung wurde der Na^+ -armen Lösung Harnstoff (241 mMol/l) hinzugesetzt. Anzahl der Versuche: $n=4$.

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2

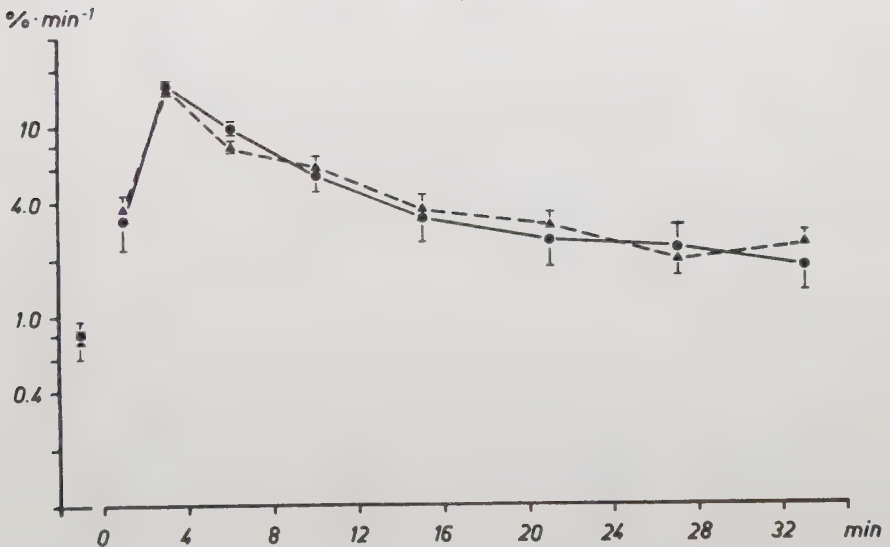


Abb. 5

Einfluß von Na^+ -armer, Ca^{++} -armer Lösung ($2,7 \text{ mM K}^+$, 17 mM Na^+ und $0,113 \text{ mM Ca}^{++}$) (Harnstoff) ($\blacktriangle$) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin im Vergleich zu Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) ($\bullet$) mit normalem Calciumgehalt.

Die Perfusionszeit betrug bei beiden Versuchsreihen 4 min. Temperatur der Lösungen: 35°C . ($n=4$).

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2.

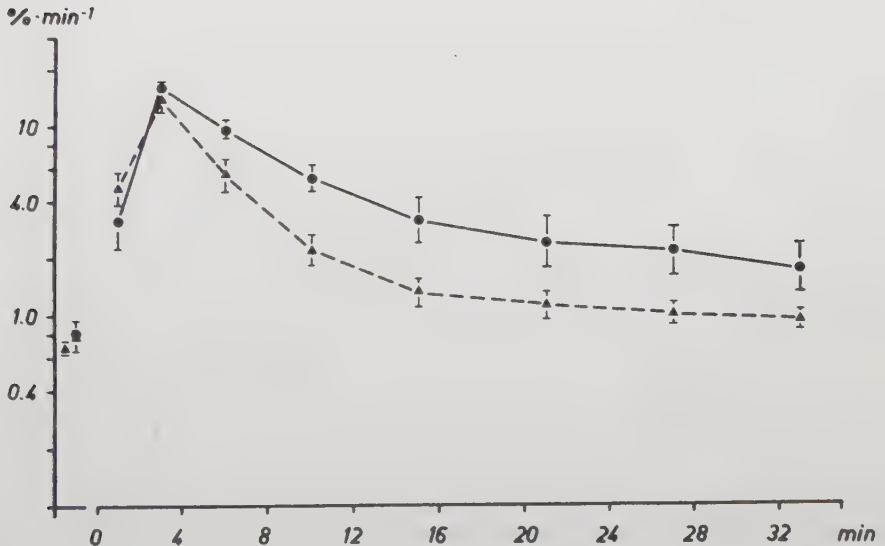
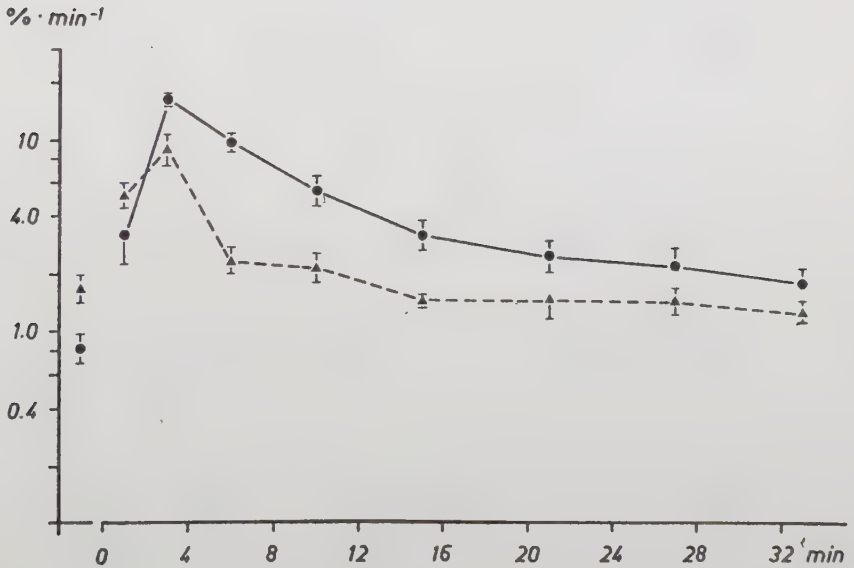


Abb. 6

Einfluß von Na^+ -armer Lösung auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin. Zur Aufrechterhaltung einer der normalen Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunkts-erniedrigung wurde einmal Harnstoff ($\bullet$), das andere Mal Saccharose (211 mMol/l) ($\blacktriangle$) zugesetzt. Die Perfusionszeit betrug bei beiden Versuchsreihen 4 min. Temperatur der Lösungen: 35°C . Der Calciumgehalt war normal. (n=4). Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2.



4. Versuche bei erniedrigter Temperatur der Perfusionslösungen.

Um den Einfluß der Temperatur auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin durch K^+ -reiche beziehungsweise Na^+ -arme Lösung (Harnstoff) zu untersuchen, wurde jeweils eine Versuchsreihe bei einer Temperatur (aller Lösungen) von $16,0 \pm 1^\circ C$ durchgeführt. Der Ablauf dieser Perfusionsreihe entspricht dem der in 2.1. bzw. 3.1. beschriebenen Versuche. Die Perfusionszeit betrug jeweils 30 min; der Calciumgehalt war normal. Die Messung der Ruhefreisetzung in den ersten 6 min vor Beginn der Versuche ergab insgesamt $0,19 (0,17 - 0,22) \% \cdot min^{-1} (n=8)$. Die übrigen Werte sind in Tabelle 4 angegeben. Es zeigte sich, daß während der ganzen Perfusion erheblich weniger α -Methyladrenalin freigesetzt wurde als bei den Versuchen mit normaler Temperatur (siehe Abbildung 7). Bei den Versuchen mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) bei $16^\circ C$ war eine Beobachtung auffällig. Nach Umschalten auf normale Tyrodelösung nach 30 min stieg die Katecholaminfreisetzung auf einen den Versuchen mit normaler Temperatur entsprechenden Wert an. Die genauen Werte wie auch die Vergleichswerte sind in Tabelle 4 angegeben.

5. Freisetzung von Noradrenalin während der Perfusion und Gehalt der Herzen an Noradrenalin nach der Perfusion.

Durch die Gabe von 1mg Reserpin/kg Körpergewicht etwa 24 Stunden vor Beginn der Versuche wurde eine nahezu vollständige Entleerung der Noradrenalinspeicher erreicht (siehe auch DUBEY, MUSCHOLL und PFEIFFER, 1975). Um dies zu überprüfen, wurde in den Perfusaten der ersten beiden Sammelzeiten nach Umschalten auf die jeweilige Versuchslösung - also in den Zeiten, in denen

Tab. 4

Abgabe von α -Methyladrenalin durch Na^+ -arme Lösung (Harnstoff) und durch K^+ -reiche Lösung. Temperatur der Lösungen: 35° bzw 16°C .

S (min)	A (%·min ⁻¹)	B (%·min ⁻¹)	C (%·min ⁻¹)	D (%·min ⁻¹)
0 - 2	11,70 (10,50-13,04)	0,79 (0,73-0,85)	3,62 (3,01-4,35)	0,55 (0,43-0,70)
2 - 4	19,12 (18,61-19,66)	0,77 (0,61-0,97)	15,93 (15,57-16,29)	0,89 (0,70-1,13)
4 - 8	8,97 (8,19-9,82)	0,59 (0,55-0,63)	7,72 (7,12-8,36)	0,50 (0,40-0,62)
8 - 12	5,37 (4,81-5,99)	0,47 (0,41-0,55)	5,96 (5,27-6,74)	0,55 (0,43-0,71)
12 - 18	3,75 (3,65-3,86)	0,40 (0,36-0,45)	3,58 (2,98-4,30)	0,42 (0,35-0,50)
18 - 24	2,94 (2,75-3,15)	0,32 (0,27-0,36)	2,94 (2,50-3,46)	0,44 (0,37-0,53)
24 - 30	2,34 (2,13-2,57)	0,35 (0,29-0,42)	1,92 (1,57-2,34)	0,51 (0,42-0,61)
30 - 36	0,98 (0,83-1,16)	0,38 (0,34-0,43)	2,33 (1,97-2,76)	1,52 (1,35-1,72)

A: Abgabe von α -Methyladrenalin während 30minütiger Perfusion mit K^+ -reicher Lösung und anschließender 6minütiger Perfusion mit Tyrodelösung. Temperatur der Lösungen: 35°C . (n=4).

B: wie A, nur Temperatur: 16°C . (n=4).

Fortsetzung der Legende zu Tab. 4:

C: Abgabe von α -Methyladrenalin während 30minütiger Perfusion mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) und anschließender 6minütiger Perfusion mit Tyrodelösung. Temperatur: 35°C . (n=4).

D: wie C, nur Temperatur: 16°C . (n=4).

Ein statistischer Vergleich von A mit B und C mit D wurde wegen eindeutiger Signifikanz nicht durchgeführt.

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Tabelle 2.

Abb. 7

Einfluß von Temperaturerniedrigung auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.

(▲) Na^+ -arme Lösung (Harnstoff); Temperatur: 35°C .

(●) Na^+ -arme Lösung (Harnstoff); Temperatur: 16°C .

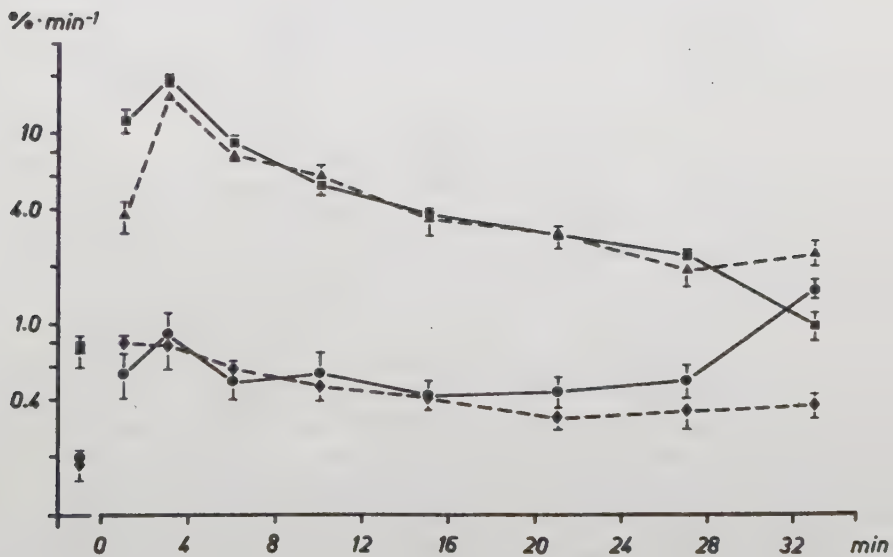
(■) K^+ -reiche Lösung; Temperatur: 35°C .

(◆) K^+ -reiche Lösung; Temperatur: 16°C .

Die Perfusionszeit betrug bei allen Versuchen 30 min.

Der Calciumgehalt war normal. (n=4).

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2.



die größte Freisetzung von α -Methyladrenalin erwartet wurde - neben dem "falschen" Überträgerstoff differentialfluorometrisch auch Noradrenalin bestimmt. Ebenso wurde bei den Katecholaminbestimmungen in den Herzextrakten verfahren. In Tabelle 5 sind die so gefundenen Werte zusammen mit den entsprechenden Mengen an α -Methyladrenalin aufgeführt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden die Werte vergleichbarer Versuchsreihen als gemeinsamer Mittelwert angegeben.

6. Gehalt der Herzen an α -Methyladrenalin vor und nach den Perfusionsversuchen.

Nach der oben beschriebenen Methode erhielten sechs Kaninchen die angegebene Infusion mit α -Methyladrenalin. Im Anschluß an die Äquilibrierungszeit von 15 min wurden die Herzen freipräpariert und die Katecholamine extrahiert und bestimmt. Dabei wurden folgende Gesamt Mengen an Katecholaminen in den Herzen nachgewiesen:

5725 $\pm$ 709 ng α -Methyladrenalin

26 $\pm$ 72 ng Noradrenalin

Ebenso wurde nach Ablauf jeder Perfusion der noch verbliebene Katecholamingehalt der Herzen bestimmt. Die gefundenen Werte - aufgeschlüsselt nach den unterschiedlichen Versuchsreihen - können der Tabelle 6 entnommen werden. Ferner wurden die Mengen an α -Methyladrenalin berechnet, die zu Beginn der Perfusionsversuche in den Herzen enthalten waren. Zu diesem Zwecke wurde die Größe der anfangs gemessenen Spontanabgabe auch für die Zeit der Vorperfusion angenommen. Die Zeit der Vorperfusion, während der die Herzen fixiert wurden, lag erfahrungsgemäß bei 10 min. Die so berechnete Menge an α -Methyladrenalin (Spontanfreisetzung in ng/min $\cdot$ 10) ergab zusammen mit den während der Sammelzeiten frei-

gesetzten Mengen und der im Herzen nach der Perfusion gefundenen Menge den Gehalt der Herzen an α -Methyladrenalin vor Beginn der Versuche. Diese Werte sind ebenfalls in Tabelle 6 enthalten.

Schließlich wurde geprüft, ob die einzelnen Perfusionsbedingungen zu einem statistisch erfaßbaren Verlust von α -Methyladrenalin führten, der bei einer Metabolisierung des aufgenommenen Amins hätte eintreten müssen. Dazu wurden Gruppen wie für Tabelle 5 gebildet und in Tabelle 7 die α -Methyladrenalingehalte vor der Perfusion dem oben angegebenen Mittelwert für den α -Methyladrenalingehalt der nicht perfundierten Herzen gegenübergestellt. Obgleich die Amingehalte der perfundierten Herzen niedriger waren als diejenigen der nicht perfundierten Herzen, bestanden keine signifikanten Unterschiede. Daher könnte allenfalls ein geringer Prozentsatz von α -Methyladrenalin in den Herzen metabolisiert worden sein.



Tab. 5

Freisetzung von Noradrenalin während und Gehalt der Herzen an Noradrenalin nach der Perfusion. Zum Vergleich werden die entsprechenden Werte für α -Methyladrenalin mit aufgeführt.

	0 - 2 min (ng/min)	2 - 4 min (ng/min)	Herz (ng)
A: Noradrenalin	11,7 $\pm$ 4,1	-4,5 $\pm$ 10,9	45 $\pm$ 26
α -Methyladrenalin	159 $\pm$ 20	541 $\pm$ 45	905 $\pm$ 178
B: Noradrenalin	4,0 $\pm$ 18,9	-14,4 $\pm$ 9,8	-21 $\pm$ 26
α -Methyladrenalin	480 $\pm$ 73	550 $\pm$ 80	1415 $\pm$ 296
C: Noradrenalin	6,2 $\pm$ 2,6	7,2 $\pm$ 2,9	125 $\pm$ 54
α -Methyladrenalin	38 $\pm$ 6,0	39,0 $\pm$ 11,2	4064 $\pm$ 541
D: Noradrenalin	-0,45 $\pm$ 2,7	-3,1 $\pm$ 5,2	73 $\pm$ 97
α -Methyladrenalin	30 $\pm$ 6,9	45,0 $\pm$ 6,8	3883 $\pm$ 584
E: Noradrenalin	50 $\pm$ 21	-7,0 $\pm$ 7,1	13,4 $\pm$ 170
α -Methyladrenalin	193 $\pm$ 16,1	303 $\pm$ 15,6	1793 $\pm$ 596

Legende zu Tab. 5 :

- A: Na^+ -arme Lösung (Harnstoff); Calciumgehalt normal oder erniedrigt; Temperatur: 35°C . (n=12).
B: K^+ -reiche Lösung; Calciumgehalt normal oder erniedrigt; Temperatur: 35°C . (n=12).
C: K^+ -reiche Lösung; Calciumgehalt normal; Temperatur: 16°C ; (n=4).
D: Na^+ -arme Lösung (Harnstoff); Calciumgehalt normal; Temperatur: 16°C . (n=4).
E: Na^+ -arme Lösung (Saccharose); Calciumgehalt normal; Temperatur: 35°C . (n=4).

In einigen Fällen ergeben sich negative Werte für Noradrenalin dadurch, daß die methodisch erfaßbare Menge geringer war als die Fehlergrenze der differentialfluorometrischen Bestimmungsmethode.



Tab. 6

Gehalt der Herzen an α -Methyladrenalin vor und nach den Perfusionsversuchen.

Versuchsreihe	α -Methyladrenalin (vor der Perfusion) (ng)	α -Methyladrenalin (nach der Perfusion) (ng)
A	4721 $\pm$ 574	726 $\pm$ 227
B	3927 $\pm$ 220	556 $\pm$ 95
C	7379 $\pm$ 612	2592 $\pm$ 270
D	3578 $\pm$ 335	389 $\pm$ 70
E	3727 $\pm$ 244	1262 $\pm$ 256
F	4796 $\pm$ 1219	1432 $\pm$ 381
G	4931 $\pm$ 624	4064 $\pm$ 541
H	5194 $\pm$ 703	3883 $\pm$ 584
I	5074 $\pm$ 684	1793 $\pm$ 596

A: Na⁺-arme Lösung (Harnstoff); Perfusionszeit: 4min; Temperatur: 35°C.

B: Na⁺-arme Lösung (Harnstoff); Perfusionszeit: 30min; Temperatur: 35°C.

C: K⁺-reiche Lösung; Perfusionszeit: 4min; Temperatur: 35°C.

D: K⁺-reiche Lösung; Perfusionszeit: 30min; Temperatur: 35°C.

E: K⁺-reiche, Ca⁺⁺-arme Lösung; Perfusionszeit: 4min; Temperatur: 35°C.

F: Na⁺-arme, Ca⁺⁺-arme Lösung (Harnstoff); Perfusionszeit: 4min; Temperatur: 35°C.

G: K⁺-reiche Lösung; Perfusionszeit: 30min; Temperatur: 16°C.

Fortsetzung der Legende zu Tab. 6:

H: Na⁺-arme Lösung (Harnstoff); Perfusionszeit: 30min;
Temperatur: 16°C.

I: Na⁺-arme Lösung (Saccharose); Perfusionszeit: 4min;
Temperatur: 35°C.

Anzahl der jeweiligen Versuche: n=4.

Tab. 7

Vergleich des Gehaltes an α -Methyladrenalin von nicht perfundierten Kaninchenherzen mit demjenigen perfundierter Herzen.

Herzen	α -Methyladrenalin (vor der Perfusion) (ng)	n
nicht perfundiert	5725 $\pm$ 709	6
Gruppe A	4481 $\pm$ 428	12
Gruppe B	4895 $\pm$ 575	12
Gruppe C	4931 $\pm$ 624	4
Gruppe D	5194 $\pm$ 703	4
Gruppe E	5074 $\pm$ 684	4

Zusammensetzung der Gruppen A - E: s. Legende zu Tab. 5.
Anggegeben sind Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ aus n Versuchen. Statistischer Vergleich der nicht perfundierten Herzen mit A - E: p 0,05, t - Test nach DUNNETT (1955).

D. DISKUSSION

Um die nicht-exozytotische Freisetzung von Katecholaminen aus dem Axoplasma zu untersuchen, wurden bei früheren Versuchen die Versuchstiere mit Reserpin und Monoaminoxydasehemmern vorbehandelt. Da α -Methyladrenalin für die Monoaminoxydase kein Substrat darstellt (MUSCHOLL, 1972), reichte bei den vorliegenden Versuchen eine Vorbehandlung mit Reserpin aus. Durch diese wurden die vesikulären Speicher entleert und eine Aufnahme des infundierten α -Methyladrenalins in diese Speicher verhindert. Die Aufnahme von Noradrenalin durch die Axonmembran wird durch Reserpin nicht verändert (LINDMAR und MUSCHOLL, 1964; IVERSEN, GLOWINSKI und AXELROD, 1965; MALMFORS, 1965). Für α -Methyladrenalin wurde dies durch RACKE (1978) bestätigt.

Frühere Arbeiten haben gezeigt, daß sowohl eine Erniedrigung der Natriumkonzentration (LINDMAR und LÖFFELHOLZ, 1974, b) als auch eine Erhöhung der Kaliumkonzentration (WAKADE und KIRPEKAR, 1974) in der Perfusionslösung eine erhöhte Freisetzung von Noradrenalin aus dem Axoplasma zur Folge haben. Diese Befunde werden jetzt so erklärt, daß eine Na^+ -Reduktion in der Perfusionsflüssigkeit den normalerweise hohen Na^+ -Gradienten: Extrazellulärraum/Intraaxonraum herabsetzt bzw. sogar umkehrt. Damit übertrifft der Amin-efflux den Amininflux (Übersicht: PATON, 1976), da der Carrier-vermittelte Amintransport durch die Axonmembran entlang dem Natriumgradienten stattfindet (Übersicht: GRAEFE, 1976). Auch eine Depolarisation führt zur Effluxsteigerung. Die normalerweise vorhandene Polarisation der Axonmembran baut einen elektrischen Gradienten auf, welcher die positiv geladenen Aminmoleküle im Axoplasma zurückhält. Bei Depolarisa-

tion durch K^+ -reiche Lösung bricht der elektrische Gradient zusammen, und dies gestattet den leichteren Auswärtstransport von Aminen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung solcher Konzentrationsveränderungen von Natrium und Kalium auf den neuronalen Efflux des zuvor infundierten α -Methyladrenalins untersucht. Bei der Perfusion mit K^+ -reicher Lösung zeigte sich eine rasch einsetzende und starke Freisetzung von α -Methyladrenalin, die durch Zurückschalten auf normale Tyrodelösung reversibel war (siehe Abb. 2). Perfundierte man die Herzen hingegen mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff), so zeigte sich einlangsames Ansteigen der Aminfreisetzung, die nach Umschalten auf Tyrodelösung ungehindert mit abfallender Tendenz weiterlief (siehe Abb. 4, bzw. 8 und 9). Der α -Methyladrenalin-Efflux stieg in den ersten zwei min nach Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) von 0,76 auf $3,2 - 3,62 \text{ \%} \cdot \text{min}^{-1}$ an, und nach 2 - 4 min auf etwa $16 \text{ \%} \cdot \text{min}^{-1}$ (Tab. 3 A und B). Dagegen bewirkte K^+ -reiche Lösung in den ersten zwei min bereits einen Anstieg von 0,67 auf 9,86 (Tab. 2 A) bzw. $11,7 \text{ \%} \cdot \text{min}^{-1}$ (Tab. 2 B), der sich in den folgenden zwei min auf 16,75 bzw. $19,12 \text{ \%} \cdot \text{min}^{-1}$ erhöhte.

Das schnellere Ansteigen des Effluxes von α -Methyladrenalin unter K^+ -reicher Lösung könnte für einen Rest exozytotischer Freisetzung sprechen, der sich zu dem Effekt, der durch Na^+ -arme Lösung (Harnstoff) verursacht wird, hinzuaddiert. Dies ist jedoch nicht wahrscheinlich, weil bei Perfusion Ca^{++} -armer Lösung der schnellere Effluxanstieg nach Zugabe von Kalium (Tab. 2 C, Abb. 3) im Vergleich zu derjenigen nach Na^+ -armer Lösung (Tab. 3 C, Abb. 5) bestehen blieb. Wäre der Effekt durch Exozytose bedingt, so würde er durch Verminderung des Calciumgehaltes aufgehoben oder zu-

Abb. 8

Vergleich des Einflusses von K^+ -reicher (■) und Na^+ -armer (◆) Lösung (Harnstoff) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.

Die Perfusionszeit betrug bei beiden Versuchsreihen 4 min. Temperatur der Lösungen: $35^{\circ}C$. Der Calciumgehalt der Lösungen war normal.

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2.

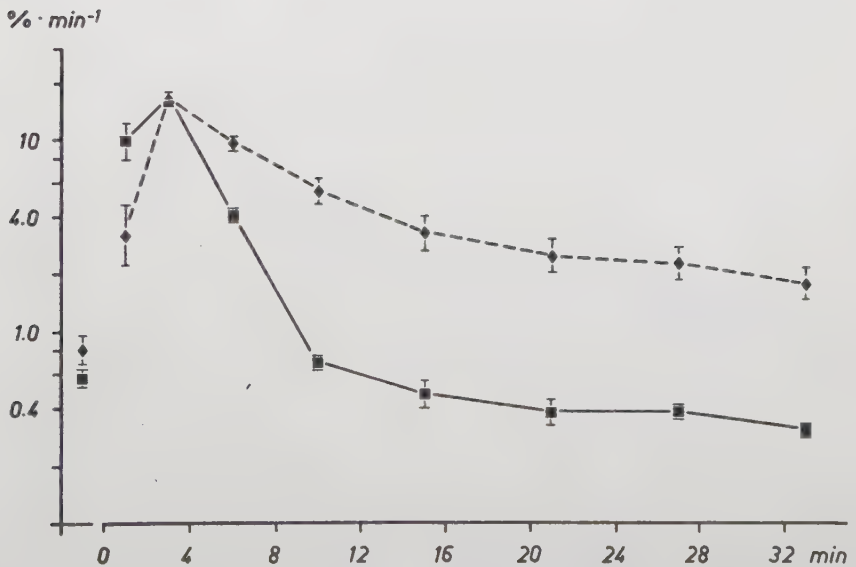
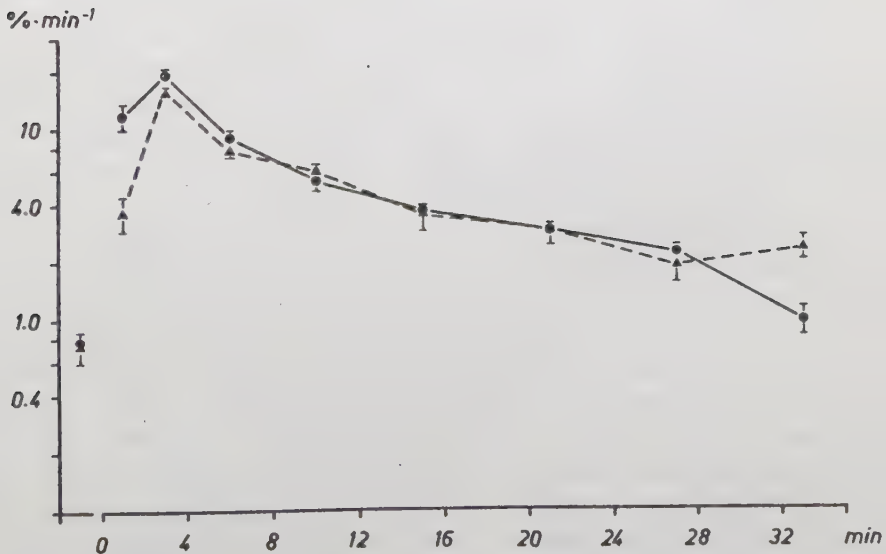


Abb. 9

Vergleich des Einflusses von K^+ -reicher (●) und Na^+ -armer (▲) Lösung (Harnstoff) auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin.

Die Perfusionszeit betrug bei beiden Versuchsreihen 30 min. Temperatur der Lösungen: $35^{\circ}C$. Der Calciumgehalt der Lösungen war normal.

Weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 2.



mindest vermindert werden, da die Exozytose Calcium-abhängig ist (SMITH und WINKLER, 1972). Eine andere Ursache für die schneller einsetzende Wirkung der K^+ -reichen Lösung könnte die an der Freisetzung beteiligte Depolarisation der Membran (vgl. PATON, 1976) durch die hohe extrazelluläre Kaliumkonzentration sein.

Die Beobachtung, daß nach Zurückschalten von Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) auf Tyrodelösung die Freisetzung von α -Methyladrenalin ungehindert weiterging (Abb. 4), unterschied sich deutlich vom zeitlichen Verlauf der Freisetzung durch Na^+ -arme Lösung, bei der zur Aufrechterhaltung einer der normalen Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung statt Harnstoff Saccharose verwandt wurde (siehe Abb. 6). Hier zeigte sich zum einen eine insgesamt geringere Freisetzung von α -Methyladrenalin, zum anderen eine Reversibilität des Effluxes nach Zurückschalten auf normale Tyrodelösung. Harnstoff könnte demnach an der Membran der Nervenfaser und/oder der axoplasmatischen Bindungsstelle für α -Methyladrenalin eine schädigende Wirkung haben. Harnstoff besitzt an vielen biologischen Membranen eine nur geringe osmotische Aktivität (DAWSON, 1964). Harnstoff könnte zusammen mit Wasser in die Nervenzelle eindringen und aufgrund einer Schädigung der Membran einen gesteigerten Austritt von Aminen aus dem Neuron verursachen. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung zeigte allerdings, daß morphologisch faßbare Schädigungen der Axonmembran oder der adrenergen Speichervesikel während der Perfusion des Kaninchenherzens mit Na^+ -armer Lösung (Harnstoff) nicht auftreten, obwohl Myokardfasern schwellen und die Membranen teilweise zerstört werden (DIXON, FOZARD, GOSLING, MUSCHOLL und RITZEL, 1978). Saccharose bliebe hingegen extra-

zellulär. Der Verlauf der Freisetzung durch Na^+ -arme Lösung bei Aufrechterhaltung der Osmolalität durch Saccharose würde demnach die alleinige Wirkung einer Erniedrigung der NaCl -Konzentration auf den neuronalen Efflux wiedergeben, die wie die Wirkung K^+ -reicher Lösung reversibel ist. Die Abgabe von α -Methyladrenalin während Perfusion mit Na^+ -armer Lösung (Saccharose) betrug nur etwa die Hälfte derjenigen nach 4minütiger Perfusion von Na^+ -armer Lösung (Harnstoff), und etwa $1/3$ derjenigen nach K^+ -reicher Lösung (in allen Fällen Ca^{++} 1,8 mM).

Die Freisetzung von vesikulär gespeicherten Aminen durch depolarisierende Reize ist abhängig vom Calciumgehalt der perfundierten Lösung (HUKOVIC und MUSCHOLL, 1962; BOULLIN, 1967; KIRPEKAR und MISU, 1967; KIRPEKAR und WAKADE, 1968). Dies gilt auch für den "falschen" Transmitter α -Methyladrenalin (FUDER, MUSCHOLL und WEGWART, 1976). Die Freisetzung von Noradrenalin aus dem Axoplasma hingegen ist nicht abhängig von der Calciumkonzentration (PATON, 1976). In der vorliegenden Arbeit wurde dies für die Freisetzung von α -Methyladrenalin durch Perfusion mit K^+ -reicher, Ca^{++} -armer Lösung bestätigt (siehe Abb. 3). Perfundierte man die Herzen mit Na^+ -armer, Ca^{++} -armer Lösung (Harnstoff), so zeigte sich für die initiale Freisetzung (in den ersten 4 min) kein Unterschied zu der durch Na^+ -arme Lösung (Harnstoff) mit normalen Calciumgehalt verursachte Freisetzung. Schaltete man nach 4 min jedoch auf normale bzw. Ca^{++} -arme Tyrodelösung zurück, so zeigte sich ein deutlicher Abfall der freigesetzten Mengen an α -Methyladrenalin bei Versuchen mit reduziertem Calciumgehalt. (siehe Abb. 5). Dies könnte dadurch verursacht sein, daß durch die infolge der hypoosmolaren Harnstofflösung durchlässiger gewordene

Membran Calcium langsam einströmt und auf eine noch ungeklärte Weise eine Aminfreisetzung verursacht. Eine endgültige Antwort auf diese Frage läßt sich mit den hier beschriebenen Versuchen nicht finden.

LINDMAR und LÖFFELHOLZ haben 1972 gezeigt, daß die nicht-exozytotische Freisetzung von Noradrenalin aus dem Axoplasma durch Temperaturerniedrigung gehemmt wird. Diese Beobachtung wurde durch die vorliegende Arbeit für α -Methyladrenalin bei einer Senkung der Temperatur von 37° auf 16° bestätigt (siehe Abb. 7). Dies gilt sowohl für den durch K^{+} -reiche als auch den durch Na^{+} -arme Lösung bedingten neuronalen Efflux.

Ferner wurde der Gehalt der Herzen an Katecholaminen vor der Perfusion verglichen mit dem Amingehalt gleichartig vorbehandelter Herzen, die nicht perfundiert wurden. Dies diente zur Feststellung, ob ein Teil der Katecholamine während der Perfusion metabolisiert wurde (siehe Tab. 7). Die Ergebnisse sprechen dafür, daß ein Verlust durch metabolische Prozesse im Herzgewebe nicht stattfindet.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sollte der neuronale Efflux des "falschen" Überträgerstoffes α -Methyladrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen durch Erniedrigung der Natrium- und Erhöhung der Kaliumkonzentration in den Lösungen sowie der Einfluß von Calciumentzug und Hypothermie darauf untersucht werden.

Nach Vorbehandlung mit Reserpin (1mg/kg Körpergewicht) erhielten die narkotisierten Kaninchen eine zwanzigminütige Dauerinfusion von α -Methyladrenalin (85µg/kg Körpergewicht und Minute). Nach 15 min wurden die Tiere entblutet, die Herzen isoliert und nach Langendorff perfundiert. Zur Kontrolle des Funktionszustandes der Herzen wurde die systolische Spannungsentwicklung von rechter Kammer und rechtem Vorhof sowie die Herzfrequenz registriert.

Die Freisetzung von α -Methyladrenalin wurde nach Perfusion von Kalium-reicher (135 mM K^+) und Natrium-armer Lösung (17 mM Na^+) gemessen. Ferner wurde der Einfluß von verminderter Calciumkonzentration in den Lösungen (0,113 mM Ca^{++}) und Hypothermie ($16,0 \pm 1^\circ C$) untersucht. Zur Aufrechterhaltung einer der normalen Tyrodelösung entsprechenden Gefrierpunktserniedrigung wurde bei Natrium-armer Lösung ein iso-osmolarer Ersatz von 132 mM NaCl durch Harnstoff oder Saccharose vorgenommen und die unterschiedliche Wirkung dieser Lösungen auf die Freisetzung untersucht.

Kalium-reiche Lösung bewirkte eine rasch einsetzende, von $0,7\% \cdot \text{min}^{-1}$ bis auf $19\% \cdot \text{min}^{-1}$ steigende Freisetzung von α -Methyladrenalin, die nach Zurückschalten auf normale Tyrodelösung reversibel war. Natrium-arme Lösung (Harnstoff) erzeugte eine verzögert einsetzende

Freisetzung, die aber in 30 min quantitativ der durch Kalium-reiche Lösung bewirkten entsprach, und die durch Zurückschalten auf normale Tyrodelösung nicht reversibel war.

Wurde Harnstoff durch Saccharose ersetzt, zeigte der zeitliche Verlauf der Freisetzung ebenfalls einen verzögerten Anstieg. Die freigesetzte Aminmenge betrug in den ersten 4 min nur 1/3 der nach Kalium-reicher und die Hälfte der nach Natrium-armen Lösung (Harnstoff) abgegebenen Menge. Außerdem ergaben die Versuche nach Zurückschalten auf normale Tyrodelösung, daß der Prozeß der Freisetzung nach Natrium-armen Lösung (Saccharose) reversibel war.

Erniedrigung der Calciumkonzentration hatte auf die Freisetzung durch Kalium-reiche Lösung keinen Einfluß. Das gleiche ergab sich auch für die initiale Freisetzung durch Natrium-arme Lösung (Harnstoff). Wurde hier jedoch wieder auf normale Tyrodelösung umgeschaltet, so zeigte sich bei erniedrigtem Calciumgehalt eine verminderte Restfreisetzung von 4 - 30 min.

Erniedrigung der Temperatur der Perfusionslösungen auf 16°C hemmte die Freisetzung von α -Methyladrenalin durch Kalium-reiche und Natrium-arme Lösung (Harnstoff). Dies entspricht früheren Versuchen anderer Autoren, die den neuronalen Noradrenalin-Efflux betreffen.

Die vorliegenden Versuche zeigen, daß durch Umkehrung des Natriumgradienten der neuronale Aminefflux erhöht und dieser Effekt durch die Anwesenheit von Kaliumionen gesteigert wird. Ersatz von NaCl in der Tyrodelösung durch Harnstoff führt über die Wirkung der Natriumverminderung hinaus zu einem irreversiblen

Verlust von α -Methyladrenalin, der vermutlich auf einer osmotischen Schädigung der Membran oder von Amin-Bindungsstellen im Axon beruht.

LITERATURVERZEICHNIS

BECKETT, P. R. :

The isolated perfused rabbit heart: two suggested improvements.

J. Pharm. Pharmacol. 22, 818 - 822 (1970)

BOGDANSKI, T.F.; BRODIE, B.B. :

The effects of inorganic ions on storage and uptake of ³H-norepinephrine by rat heart slices.

J. Pharmacol. exp. ther. 165, 181 - 189 (1969)

BOULLIN, D.J.:

The action of extracellular cations on the release of the sympathetic transmitter from peripheral nerves.

J. Physiol., London, 189, 85 - 99 (1967)

DAWSON, H.:

A Textbook of General Physiology.

3rd ed. pp. 252 - 261, J.A. Churchill, London 1964

DIXON, J.S.; FOZARD, J.R.; GOSLING, J.A.; MUSCHOLL, E. and RITZEL, H.:

Atrial sympathetic nerves after perfusion of the rabbit heart with low sodium solutions containing potassium chloride or urea - A biochemical, histochemical and fine structural study.

Neuroscience, 3, 1157 - 1167 (1978)

DUBEY, M.P.; MUSCHOLL, E. and PFEIFFER, A.:

Muscarinic inhibition of potassium-induced noradrenaline release and its dependence on the calcium concentration.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 291, 1 - 15 (1975)

DUNNETT, C.W.:

A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control.

J. Amer. Statist. Assoc. 50, 1096 - 1121 (1955)

ENERO, M.A.; LANGER, S.Z.:

Influence of reserpine-induced depletion of noradrenaline on the negative feed-back mechanism for transmitter release during nerve stimulation.

Brit. J. Pharmacol. 49, 214 - 225 (1973)

EULER, U.S.; ORWEN, J.:

Preparation of extracts of urine and organs for estimation of free and conjugated noradrenaline and adrenaline.

Acta physiol. scand. 33, suppl. 118, 1 - 9 (1955)

FOZARD, J.R.; MUSCHOLL, E.:

A useful muscarinic parameter and differential recording of atrial and ventricular tension in the perfused rabbit heart.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 270, 319 - 325 (1971)

FUDER, H.; MUSCHOLL, E.; WEGWART, R.:

The effects of methacholine and calcium deprivation on release of false transmitter, α -methyldrenaline, from the isolated rabbit heart.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 293, 225 - 234 (1976)

GRAEFE, K.H.:

Methodology of catecholamine transport studies: Definition of terms.

In: The mechanism of neuronal and extraneuronal transport of catecholamines; edited by D.M.

PATON, pp 7 - 35, Raven Press, New York (1976)

GRAEFE, K.H.; BÜNISCH, H.; TREDELENBURG, U.:

Time-dependent changes in neuronal net uptake of noradrenaline after pretreatment with pargyline and/or reserpine.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 271, 1 - 28 (1971)

HUKOVIC, S.; MUSCHOLL, E.:

Die Noradrenalin-Abgabe aus dem isolierten Kaninchenherzen bei sympathischer Nervenreizung und ihre pharmakologische Beeinflussung.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 244, 81 - 96 (1962)

IVERSEN, L.L.; GLOWINSKI, J.; AXELROD, J.:

The uptake and storage of ³H-norepinephrine in the reserpine-pretreated heart.

J. Pharmacol. exp. Ther. 150, 173 - 183 (1965)

KIRPEKAR, S.M.; MISU, Y.:

Release of noradrenaline by splenic nerve stimulation and its dependency on calcium.

J. Physiol., London 188, 219 - 234 (1967)

KIRPEKAR, S.M.; WAKADE, A.R.:

Release of noradrenaline from the cat spleen by potassium.

J. Physiol., London 194, 595 - 608 (1968)

LINDMAR, R.; LÖFFELHOLZ, K.:

Differential effects of hypothermia on neuronal efflux, release and uptake of noradrenaline.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 274, 410 - 414 (1972)

LINDMAR, R.; LÖFFELHOLZ, K.:

Neuronal and extraneuronal uptake and efflux of catecholamines in the isolated rabbit heart.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 284, 63 - 92 (1974a)

LINDMAR, R.; LÖFFELHOLZ, K.:

The neuronal efflux of noradrenaline: dependency on sodium and facilitation by ouabain.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 284, 93 - 100 (1974b)

LINDMAR, R.; MUSCHOLL, E.:

Die Wirkung von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit und die Noradrenalinaufnahme in das isolierte Herz.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 247, 469 - 492 (1964)

LÖFFELHOLZ, K.:

Der Efflux von exogenem Noradrenalin aus dem adrenergen Neuron und aus extraneuronalen Kompartimenten.

Habilitationsschrift an der Johannes Gutenberg Universität, Mainz 1971

LÖFFELHOLZ, K.; LINDMAR, R.; MUSCHOLL, E.:

Efflux of exogeneously administered noradrenaline from the adrenergic neurone and extraneuronal compartments.

Acta physiol. pol. 24, 171 - 175 (1973)

MALMFORS, T.:

Studies of adrenergic nerves.

Acta physiol. scand. 69, suppl. 248 (1965)

MUSCHOLL, E.:

Release of catecholamines from the heart.

In: Mechanism of release of biogenic amines; edited by U.S. von EULER, S. ROSELL, B. UVNÄS; pp 247 - 260, Pergamon Press, Oxford (1966)

MUSCHOLL, E.:

Adrenergic false Transmitters.

In: Handbook of exp. Pharmacol. Vol. 33, edited by H. BLASCHKO and E. MUSCHOLL; pp 618 - 660
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1972)

PATON, D.M.:

Mechanism of efflux of noradrenaline from adrenergic nerves in rabbit atria.

Brit. J. Pharm. 49, 614 - 627 (1973)

PATON, D.M.:

Characteristics of efflux of noradrenaline from adrenergic neurons.

In: The mechanism of neuronal and extraneuronal transport of catecholamines; edited by D.M.

PATON; pp 155 - 174 Raven Press, New York (1976)

RACKE, K.:

Die Bedeutung der Monoaminoxidase und der vesikulären Bindung für die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch Tyramin und Ephedrin.

Med. Dissertation an der Johannes Gutenberg Universität, Mainz 1978

RITZEL, H.:

Die Noradrenalinfreisetzung durch Verminderung der Natriumionenkonzentration - Untersuchungen über den Freisetzungsmechanismus.

Naturwissenschaftliche Dissertation an der Johannes Gutenberg Universität, Mainz 1978

RITZEL, H.; MUSCHOLL, E.:

Differences in time course and Ca^{++} -dependency of noradrenaline (NA) release from heart evoked by high K^+ and/or low Na^+ solutions.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 293, suppl. R 2 (1976)



SNEDECOR, G.W.:

Statistical methods applied to experiments in
agriculture and biology.

Iowa State College Press, 4th edition (1950)

SMITH, A.D.; WINKLER, H.:

Fundamental mechanisms in the release of
catecholamines.

In: Handbook of exp. Pharmacol. Vol. 33, edited
by H. BLASCHKO and E. MUSCHOLL; pp 538 - 617
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
(1972)

WAKADE, A.R.; KIRPEKAR, S.M.:

Calcium-independent release of ³H-norepinephrine
from reserpine-pretreated guinea-pig vas deferens
and seminal vesicle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 190, 451 - 458 (1974)

Herrn Professor Dr. E. Muscholl möchte ich meinen Dank für die freundliche Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für seine hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit aussprechen.

Fräulein B. Hering danke ich für ihre tatkräftige und gute Mitarbeit bei den durchgeführten Laboruntersuchungen.



LEBENS LAUF

Ich wurde am 24.6.1949 in Hameln als Sohn von Friedrich Höltermann und seiner Ehefrau Ilse, geb. Mothes, geboren.

Nach vier Jahren Volksschule in Köln, Wuppertal und Hilders/Rhön und neun Jahren Unterricht an dem Staatlichen Kant - Gymnasium in Boppard/Rhein bestand ich dort im Juni 1967 meine Reifeprüfung.

Nach Ableistung meines Grundwehrdienstes fing ich im Mai 1969 eine Lehrzeit als Apothekerpraktikant in Boppard an, die ich im Juni 1971 in Koblenz mit dem Pharmazeutischen Vorexamen erfolgreich abschloß. Anschließend arbeitete ich als Pharmazeutisch - technischer Assistent bis März 1972 in einer Apotheke in Emmelshausen/Hunsrück.

Von April 1972 bis September 1972 studierte ich Pharmazie an der Universität in Bonn. Im Oktober 1972 begann ich mit meinem Medizinstudium an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz. Dort bestand ich mein Vorphysikum im März 1973, mein Physikum im März 1974, meine erste Ärztliche Prüfung im März 1975, meine zweite Ärztliche Prüfung im August 1977 und die dritte im Oktober 1978. Mein Praktisches Jahr absolvierte ich am Stadtkrankenhaus Rüsselsheim. Am 27.11.1978 erhielt ich meine Approbation als Arzt. Seit dem 1.1.1979 arbeite ich in der Chirurgischen Abteilung des Weender Krankenhauses in Göttingen bei Professor Böhme.

